



REC'D 04 DEC 2002

WIPO PCT

28 FEB 2005

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 40 985.4
Anmeldetag: 05. September 2002
Anmelder/Inhaber: MENNO CHEMIE-VERTRIEB G.M.B.H.,
Norderstedt/DE
Bezeichnung: Mittel zur Inaktivierung pathogener Erreger auf
Flächen, Instrumenten und in kontaminierten
Flüssigkeiten
IPC: A 01 N 37/10

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 24. Oktober 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Weihmayr

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

Mittel zur Inaktivierung pathogener Erreger auf Flächen, Instrumenten und in kontaminierten Flüssigkeiten

Durch Infektionen, die von Patienten in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen erworben werden, entstehen große Schäden für die Versichertengemeinschaft und die Volkswirtschaft. Diese als nosokomiale Erkrankungen bezeichneten Infektionen wurden in der Vergangenheit vorwiegend den Bakterien zugeordnet.

Das lag zum einen daran, dass viele Erkrankungen mykologischer oder viraler Genese mangels ausreichender medizinischer Diagnostik nicht erkannt wurden. Zum anderen haben als Folge moderner therapeutischer Maßnahmen aber auch durch Reiseverkehr und globale Verflechtungen Infektionen zugenommen, die durch Viren und Pilze bedingt sind; z.B. die in jüngerer Zeit beobachteten Seuchenzüge in der europäischen Tierhaltung sind ausnahmslos viraler Genese wie die MKS, Aujeszky'sche Krankheit sowie die Schweinepest. In Krankenhäusern werden zunehmend virale Erkrankungen z.B. der Norwalk - like Viren, Rotaviren und Adenoviren diagnostiziert, aber auch Pilzinfektionen, die zu Systemmykosen und sekundären Infektionen führen.

Diese neue Situation und der neue Kenntnisstand haben in den letzten Jahren dazu geführt, dass prophylaktische Maßnahmen wie z. B. Desinfektionsverfahren neu

überdacht und konzipiert werden müssen. So wird von verschiedenen normgebenden Stellen gefordert, dass neben Bakterien auch besonders widerstandsfähige Pilze (z.B. *Aspergillus niger*) und Viren (z.B. Poliovirus und Adenovirus) durch die Desinfektion erfasst werden müssen.

Umfassend anwendbare Desinfektionsmittel mit hinreichend viruzider Wirksamkeit gelangen derzeit nur noch stark begrenzt zur Anwendung. Grund dafür sind die Nebenwirkungen der Agenzien. Davon sind insbesondere aldehydische Wirkstoffe betroffen, wie z.B. Formaldehyd, Glutardialdehyd, Succindialdehyd oder Glyoxal und deren aldehydabspaltenden Derivate.

Diese Komponenten galten bisher als klassische Träger einer breiten antimikrobiellen und antiviralen Wirksamkeit in Desinfektionsmittelformulierungen.

Die Agenzien, mit der universellsten Einsatzbreite, - weil auch anwendungstechnisch unproblematisch - im Kampf gegen pathogene Erreger, Formaldehyd und Glutardialdehyd, wurden als giftig eingestuft und stehen im Verdacht kanzerogen zu sein. Bei anderen Aldehyden werden vergleichbare Eigenschaften vermutet.

Dies hat zur Folge, dass die Anwender, wegen des Gefährdungspotenzials, auf aldehydbasierte Desinfektionsmitteln weitgehend verzichten.

Andere zur Verfügung stehende Wirkstoffe sind gegenüber unbehüllten Viren und bestimmten Pilzarten wegen deren besonderer Resistenz nicht bzw. nur begrenzt wirksam oder aufgrund ihrer ungünstigen chemischen und physikalischen Eigenschaften nicht beliebig einsetzbar.

Dies gilt für die Klasse der Per-Verbindungen, für Jod, Chlorabspalter, Alkohole, Kat. Tenside, Amphotenside, Phenole, Basen, Säuren und Aktiv-Sauerstoff freisetzende Verbindungen.

Persäuren z.B. haben ein sehr breit gefächertes antimikrobielles Wirkungsspektrum, sind jedoch wegen ihrer extrem korrodierenden Eigenschaften nur sehr begrenzt einsetzbar. Beträchtliche Probleme ergeben sich außerdem aus der mangelnden Stabilität dieser Verbindungsklasse.

Auf der Suche nach einer adäquaten Alternative wurde nun überraschend gefunden, dass die Verwendung bestimmter Gemische, bestehend aus aromatischen Hydroxycarbonsäuren und Phenolen, die entstandene Lücke zu schließen vermag, dies nicht nur der mikrobiziden Wirksamkeit wegen, sondern auch wegen der günstigen toxikologischen, ökotoxikologischen und materialverträglichen Eigenschaften.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Mittel zur Inaktivierung von pathogenen Erregern - Bakterien, Pilze und Viren (behüllt und unbehüllt) - anwendbar auf Flächen und Instrumenten aller Art sowie in kontaminierten Flüssigkeiten. Die Anwendungsgebiete können unterschiedlichster Kategorie sein, z.B. im Bereich von Krankenhäusern, Arztpraxen, Produktionsräumen der Lebensmittelindustrie bis hin zu den Ställen des Viehzüchters.

Eine synergistische Wirkung zwischen den Komponenten der erfindungsgemäßen Desinfektionsmittelgemische wurde nicht nur für die viruziden Eigenschaften nachgewiesen, sondern auch bei den bakteriziden und fungiziden Eigenschaften. Die bakterizide und fungizide Wirkungssteigerung war umso überraschender, weil für die verwendeten Phenole und aromatischen Hydroxycarbonsäuren bereits ausgezeichnete antimikrobielle Wirkungen der Einzelkomponenten bekannt sind.

Bemerkenswert ist außerdem die ungewöhnliche Breite des Wirkungsspektrums, daran zu erkennen, dass hydrophile Picornaviren ebenso sicher inaktiviert werden, wie lipophile Pilze abgetötet werden.

Nachfolgend aufgeführte Beispiele und Tabellen dienen der Erläuterung der vorliegenden Erfindung und dem Nachweis des Synergismus zwischen den Synergisten gemäß Anspruch 1.

Nach F.C. Kull und P.C. Eisman, Applied Microbiology 9,538-41(1946) gilt ein Synergismus als nachgewiesen, wenn durch Anwendung der nachstehenden Berechnungsformel das Ergebnis $F < 1$ zustande kommt.

$$F = Q_A/Q_a + Q_B/Q_b$$

wobei die Zeichen bedeuten:

| | |
|---------|----------------------|
| $F < 1$ | <u>Synergismus</u> |
| $F = 1$ | Additive Wirksamkeit |
| $F > 1$ | Antagonismus |

| | |
|---------|-----------------------------------|
| $Q_a =$ | Menge von A allein zum Endpunkt |
| $Q_b =$ | Menge von B allein zum Endpunkt |
| $Q_A =$ | Menge von A in der Mischung mit B |
| $Q_B =$ | Menge von B in der Mischung mit A |

Beispiele

Beispiel 1

| | |
|------------------------------|-----------------|
| Alkylarylsulfonat -Na | 12,0 Gew. Teile |
| Butylmonoglykolsulfonat-Na | 5,0 |
| 4-Chlor-3-methyl-phenol | 15,0 |
| Phosphonobutantricarbonsäure | 1,5 |
| 2-Propylalkohol | 30,0 |
| Wasser entsalzt | 36,5 |

Beispiel 2

| | |
|------------------------------|-----------------|
| Alkylarylsulfonat -Na | 12,0 Gew. Teile |
| Butylmonoglykolsulfonat-Na | 5,0 |
| 2-Hydroxybenzoesäure | 6,0 |
| Phosphonobutantricarbonsäure | 1,5 |
| 2-Propylalkohol | 30,0 |
| Wasser entsalzt | 45,5 |

Beispiel 3

| | |
|------------------------------|-----------------|
| Alkylarylsulfonat-Na | 12,0 Gew. Teile |
| Butylmonoglykolsulfonat-Na | 5,0 |
| 4-Chlor-3-methylphenol | 15,0 |
| 2-Hydroxybenzoesäure | 6,0 |
| 2-Propylalkohol | 30,0 |
| Phosphonobutantricarbonsäure | 1,5 |
| Wasser entsalzt | 30,5 |

Beispiel 4

| | |
|--------------------------|-----------------|
| Alkylsulfonat -Na | 10,0 Gew. Teile |
| Cumolsulfonat -Na | 3,0 |
| 2-Phenylphenol | 15,0 |
| β -Resorcinolsäure | 7,0 |
| Ameisensäure | 5,0 |
| 2-Propylalkohol | 33,0 |
| Wasser entsalzt | 27,0 |

Zum Nachweis des synergistischen Effektes durch die erfindungsgemäßen Kombinationen - die viruziden Eigenschaften betreffend -, wurden die Formulierungsbeispiele 1-3 verwendet.

Das unbehüllte, hydrophile Picornavirus Polio Sabin LSc-2ab diente als Prüfkriterium. Prüfverfahren und Methode wurde gemäß den Regeln der noch vorläufigen europäischen Norm WI 216026 (phase2; step1) durchgeführt.

Versuchsbedingungen:

Temperatur $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

Kontaktzeit 30 Min. \pm 10 Sek.

Eiweißbelastung: 3g/l Rinderserumalbumin und
10g/l Hefeextrakt

Alle Zahlen in der Tabelle bedeuten, soweit nicht anders bezeichnet, den Infektionstiter ($\log \text{ID}_{50} \text{ ml}^{-1}$) nach 30 Min. Einwirkungszeit
(- = nicht mehr nachweisbar)

Tabelle 1 (Polio Sabin)

| Muster | Konzentrationen [%] | | | | | | |
|------------|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Kontrolle | 2% | 3% | 4% | 5% | 6% | 7% |
| Beispiel 1 | 7,7 | 6,9 | 6,3 | 5,8 | 4,3 | 3,9 | 3,0 |
| Beispiel 2 | 7,3 | 6,2 | 5,5 | 4,3 | 3,8 | 2,8 | 2,3 |
| Beispiel 3 | 7,8 | 3,6 | 2,1 | - | - | - | - |

Das Ergebnis ist als ausreichend wirksam zu bewerten, wenn der Infektionstiter um 4 log Stufen reduziert

wird, d.h. wenn eine 99,99%ige Reduktion der Infektiosität erreicht ist.

Aus Tabelle 1 folgt, daß die Phenolkomponente in Beispiel 1 bei einer Anwendungskonzentration von 7% wirksam war, während die Hydroxybenzoesäure aus Beispiel 2 eine ausreichende Wirkung bei 6%iger Konzentration zeigte. Das Gemisch aus beiden Komponenten im Formulierungsbeispiel 3 zeigte bereits bei 2%iger Konzentration eine ausreichende Inaktivierung des Poliovirus.

Setzt man diese Ergebnisse in die Formel von Kull und Eisman ein, so erhält man:

$$F = 2 \times 0,06/6 \times 0,06 + 2 \times 0,15/7 \times 0,15 = \underline{0,62}$$

Der Zahlenwert 0,62 erbringt somit einen eindeutigen Nachweis für das Vorliegen eines synergistischen Effektes.

(Das Einsetzen der prozentualen Wirkstoffmengen aus den Beispielformulierungen in die Gleichung, führt zu einem konstanten Faktor 1 und ist daher für die Berechnung entbehrlich.)

Ein synergistischer Effekt zur fungiziden Wirksamkeit konnte beispielhaft am besonders resistenten *Aspergillus niger* dargestellt werden.

Die Untersuchung wurde im quantitativen Suspensions-
test nach DIN EN 1650 (phase 2; step1) durchgeführt.

Versuchsbedingungen: DIN EN 1650

Eine Reduktion der Keime um 4 log - Stufen, stellt
den erforderlichen Wirksamkeitsnachweis dar.

Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 2 abge-
bildet. Die angegebenen Zahlenwerte sind die Loga-
rithmen (\log_{10}) der reduzierten Keimzahlen, deren Dif-
ferenz zur Ausgangskeimzahl den Reduktionsfaktor er-
gibt.

Tabelle 2 (Asp. niger)

| Beispiele | Konzentrationen [%] | | | | |
|-----------|--------------------------------|-------|------|-----|----|
| | Prüflösung log(Keimzahl/ml) | 0,25% | 0,5% | 1% | 2% |
| 1 | 7,67 | 4,9 | 3,8 | 3,1 | |
| 2 | 7,67 | 5,2 | 4,2 | 2,8 | |
| 3 | 7,67 | 2,1 | | | |

$$F = 0,25/1 + 0,25/1 = \underline{0,50}$$

Das vorstehende Rechenergebnis aus den Daten der Ta-
belle 2 beweist hier ebenfalls einen synergistischen
Effekt des Wirkstoffgemisches.

Der Nachweis synergistisch wirksamer Eigenschaften
gegen Bakterien wurde mittels einem Gram - positiven
und Gram - negativen Testorganismus im quantitativen

Suspensionstest nach DIN EN 1276 (phase2; step1) durchgeführt.

Versuchsbedingungen: Einwirkungszeit 20 Min. bei 20°C
Eiweißbelastung: 3,0 g/l Rinderserumalbumin

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse mit Escherichia coli.

Tabelle 3 (E. coli)

| Beispiele | Konzentrationen [%] | | | | |
|-----------|----------------------|-------|------|-----|----|
| | Log (Keimzahl/ml) | 0,25% | 0,5% | 1% | 2% |
| 1 | 8,49 | 4,63 | 4,1 | | |
| 2 | 8,49 | 5,15 | 4,9 | 2,9 | |
| 3 | 8,49 | 3,16 | | | |

$$F = 0,25/0,5 + 0,25/1 = \underline{0,75}$$

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse mit Staphylococcus aureus.

Versuchsbedingungen: DIN EN 1276

Tabelle 4 (Staph. aureus)

| Beispiele | Konzentrationen [%] | | | | |
|-----------|----------------------|-------|------|-----|-----|
| | Log (Keimzahl/ml) | 0,25% | 0,5% | 1% | 2% |
| 1 | 8,4 | 5,9 | 4,8 | 3,3 | |
| 2 | 8,4 | 6,3 | 5,5 | 4,9 | 2,8 |
| 3 | 8,4 | 5,1 | 3,17 | | |

Eine Reduktion der Keime um 4 log Stufen, stellte den erforderlichen Wirksamkeitsnachweis dar.

$$F = 0,5/1 + 0,5/2 = \underline{0,75}$$

In allen Untersuchungen konnten die für den Nachweis des Synergismus erforderlichen mikrobiologischen Ergebnisse erbracht werden, wodurch bewiesen ist, daß die erfindungsgemäßen Formulierungen nach Anspruch 1 gegenüber Bakterien, Pilzen und Viren synergistisch wirksam sind.

Zum Nachweis einer tuberkuloziden Wirkung im Keimträgerversuch diente die Formulierung nach Beispiel Nr.4 und das Mykobakterium avium Av 56. Die Testbedingungen entsprachen den Vorschriften der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für den Bereich Tierhaltung (2. Ausgabe 1998).

Keimträger: sterilisierte Lindenholzstücke

(Höhe: 3 mm; Länge: 10 mm; Breite 10 mm)

Tabelle 5 (Mykobakterium avium)

| Beispiel 4 Konz. [%] | Einwirkungszeit [Min.] | | | | |
|-------------------------|--------------------------|----|-----|-----|-----|
| | 30 | 60 | 120 | 180 | 240 |
| 2 | + | + | + | + | + |
| 4 | + | + | - | - | - |
| 5 | + | + | - | - | - |
| 6 | + | + | - | - | - |
| Formalin 3% | + | + | - | - | - |
| Wachstums- kontrolle | + | + | + | + | + |

Das in Tab. 5 dargestellte Versuchsergebnis zeigt, daß eine 4%ige Lösung des Formulierungsbeispiels 4

nach 120 Min. Einwirkungszeit die gleiche Wirkung wie eine 3%ige Formalinlösung erzielt. Formalin enthält gemäß DAB 10 35-37% Formaldehyd in Wasser und 10% Methanol, dies entspricht einer wirksamen Konzentration von ca. 1,1 % Aldehyd.

In der Formulierung gemäß Beispiel 4 sind 15% + 7% wirksames Substanzgemisch enthalten, davon gelangen 4% zur Anwendung, was einer tatsächlichen Wirkstoffkonzentration von nur 0,88% entspricht.

Formalin ist bei Keimträgerversuchen mit Lindenholz die allgemein anerkannte Bezugsgröße und Maßstab der Wirksamkeitsprüfung, weil das vergleichsweise kleine Aldehydmolekül besonders gut in die zerklüftete und zerfaserte Struktur des Holzkeimträgers eindringen und wirken kann.

Das Ergebnis zur tuberkuloziden Wirksamkeitsprüfung unterstreicht, ebenso wie die übrigen Ergebnisse, daß die vorliegende Erfindung alle Bedingungen erfüllt, um aldehydbasierte Desinfektionsmittelformulierungen ersetzen zu können.

Patentansprüche

1. Desinfektionsmittel zur Bekämpfung und Inaktivierung von pathogenen Erregern, zur Anwendung auf Flächen und Instrumenten medizinischer und technischer Einrichtungen sowie in kontaminierten Flüssigkeiten auf Basis eines synergistisch wirksamen Gemisches von Mono- Di- und Trihydroxybenzoesäuren und Phenolen, die anionaktive und nichtionogene Tenside als Netzmittel, Hydrotropierungsmittel, primäre und sekundäre Alkohole als Lösungsmittel und aliphatische Carbonsäuren und Hydroxycarbonsäuren- als pH- Regulatoren sowie Sequestriermittel enthalten können,

dadurch gekennzeichnet, dass

a) sie synergistisch wirksame mikrobizide und antivirale Kombinationen aus aromatischen Monohydroxycarbonsäuren wie den 2-; 3-; 4- Hydroxybenzoesäuren, den Dihydroxybenzoesäuren, 2,3-; 2,4-; 2,5-; 2,6-; 3,4-; 3,5-Dihydroxybenzoeäure, oder den Trihydroxybenzoesäuren, 2,3,4-Trihydroxybenzoe-säure, 2,4,6-Trihydroxybenzoesäure, 3,4,5-Trihydroxybenzoe-säure, einzeln oder gemischt und Phenole wie 2-Iso-propyl-5-methylphenol, 2-; 3- oder 4-Methylphenol, Hexylresorcin, 2-Phenylphenol, 2-Methoxyphenol, 3-Methyl-4-chlor-phenol, 3,5-Dimethyl-4-chlor-phenol, 2-Benzyl-4-chlorphenol einzeln oder gemischt, in Verbindung mit Alkylsulfonaten und /oder

Alkylarylsulfonsäure und/oder Alkylarylsulfonaten und/oder Alkylarylethersulfaten mit 1-3 EO-Gruppen und/oder Alkylethersulfaten mit 1-3 EO-Gruppen deren Natrium-, Kalium- und Ammoniumsalze, mit primären oder verzweigten Ketten der Länge C8-C18 als anionische Tenside enthalten, sowie nichtionogene Tenside vom Typus der Alkylpolyethylenglykoether mit 3-11 EO- Gruppen enthalten können.

b) sie Butylmonoglykolsulfat, Cumolsulfonat, Toluolsulfonat, Xylolsulfonat, als Natrium-, Kalium- oder Ammoniumsalz einzeln oder als Gemisch als Hydrotropierungsmittel und aliphatische Alkohole und/oder Glykole der Kettenlänge C2-C12 als Lösungsmittel einzeln oder als Gemisch und aliphatische Carbon- und/oder Hydroxycarbonsäuren der Kettenlänge C1 bis C6 einzeln oder als Gemisch als pH-Regulatoren enthalten können.

2. Desinfektionsmittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewichtsverhältnis der Hydroxybenzoesäuren (A) zu den Phenolen (B) zwischen 1:9 und 9:1 betragen kann und deren Summe zwischen 5 und 40 Gew. % bezogen auf das Gesamtgewicht des Desinfektionsmittelkonzentrates liegen kann.

3. Desinfektionsmittel nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewichtsverhältnis der Alkylsulfonate und/oder Alkylarylsulfate und/oder Ethersulfate und deren Salze (C) mit den Säuren und

Phenolen (A+B) im Verhältnis C: (B+A) = 1:9 und 9:1 liegen kann und deren Summe zwischen 10 und 60% bezogen auf das Gesamtgewicht des Desinfektionsmittelkonzentrates betragen kann.

4. Desinfektionsmittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewichtsverhältnis der Hydrotropierungsmittel und deren Salze, einzeln oder im Gemisch miteinander zwischen 5 und 40 Gew.% bezogen auf das Gesamtgewicht des Desinfektionsmittelkonzentrats liegen kann.
5. Desinfektionsmittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewichtsverhältnis der Alkohole einzeln oder im Gemisch miteinander zwischen 5 und 60 Gew.% bezogen auf das Gesamtgewicht des Desinfektionsmittelkonzentrates liegen kann.
6. Desinfektionsmittel nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß zwischen 1-8 Gew.% eines oder mehrerer Sequestriermittel vom Typus der Aminoessigsäuren oder Phosphonsäuren und deren jeweilige Derivate enthalten kann.
7. Verwendung der Desinfektionsmittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Bekämpfung von pathogenen Erregern im Umfeld medizinischer und technischer Einrichtungen.

8. Verwendung der Desinfektionsmittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6 in wäßrigen, verdünnten Lösungen, die zwischen 0,5 und 10 Gew.% des Desinfektionsmittelkonzentrates enthalten können.

Zusammenfassung

Mittel mit ökologischer Akzeptanz zur Bekämpfung pathogener Erreger auf Flächen, Instrumenten und in Flüssigkeiten, bestehend aus synergistischen Gemischen aromatischer Säuren und Phenole mit sehr breitem Wirkungsspektrum. Wirksam sowohl gegen hydrophile behüllte und unbehüllte Viren als auch gegen lipophile Bakterien und Pilze, daher anwendbar in Medizin, Technik und gewerblicher Tierhaltung.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.